

И.А. НАКОНЕЧНЫЙ<sup>1</sup>, А.М. ГАВРИЛЮК<sup>1</sup>, А.И. НАКОНЕЧНЫЙ<sup>1</sup>,  
В.В. ЧОПЯК<sup>1</sup>, М.М. КУРПИШ<sup>2</sup>



## ИММУНОПАТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ПРОГНОСТИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ ФЕРТИЛЬНОГО ПОТЕНЦИАЛА У МУЖЧИН С ЛЕВОСТОРОННИМ ВАРИКОЦЕЛЕ

Львовский национальный медицинский университет имени Данила Галицкого<sup>1</sup>, г. Львов,  
Украина,

Институт генетики человека Польской академии наук<sup>2</sup>, г. Познань,  
Республика Польша

**Цель.** Определить иммунопатогенетические прогностические факторы фертильного потенциала у мужчин с варикоцеле по характеру изменений показателей врожденного и приобретенного иммунитета, оценить их тенденции после варикоцелэктомии в контексте сохранения риска формирования бесплодия.

**Материал и методы.** Обследовано 36 пациентов с левосторонним варикоцеле II-III ст. и 25 после лапароскопической варикоцелэктомии, которым выполняли иммунологическое исследование. Контрольную группу составили 23 практически здоровых мужчины. Возраст обследованных варьировало от 19 до 33 лет. Определяли концентрацию цитокинов в сыворотке крови и семенной жидкости иммуноферментным методом ELISA. Проводили иммунофенотипирование лимфоцитов периферической крови (абсолютные и относительные числа) методом проточной цитометрии.

**Результаты.** У пациентов с левосторонним варикоцеле II-III ст. концентрация ряда цитокинов в периферической крови и семенной жидкости существенно отличалась от показателей у практически здоровых мужчин. По концентрации различных цитокинов и количественным показателям клеточного звена приобретенного иммунитета выявлены статистически достоверные отличия по сравнению с практически здоровыми мужчинами. Через 3 месяца после лапароскопической варикоцелэктомии уровни большинства цитокинов в сыворотке периферической крови и семенной жидкости и количественные показатели популяций лимфоцитов, субпопуляций Т-лимфоцитов и их активационных маркеров в периферической крови нормализовались.

ROC-анализ уровней цитокинов в сыворотке периферической крови и семенной жидкости больных с варикоцеле II-III ст. выявил ряд закономерностей. Весомыми иммунопатогенетическими прогностическими факторами фертильного потенциала можно считать повышение в сыворотке периферической крови уровня IFN- $\gamma$  более 12,4 пг/мл, а также изменение уровней интерлейкинов в семенной жидкости: spIL-1 $\beta$  – 50,4 пг/мл и меньше и spIL-6 – больше 49,5 пг/мл.

**Заключение.** Решающим иммунопатогенетическим фактором формирования иммунозависимого бесплодия у пациентов с варикоцеле выступает нарушение цитокиновой регуляции репродуктивной и иммунной систем, устанавливающееся по дисбалансу концентраций синтезированных Т-лимфоцитами и макрофагами про-/антивоспалительных цитокинов на локальном и периферическом уровнях.

*Ключевые слова:* варикоцеле, варикоцелэктомия, бесплодие, иммунофенотипирование, цитокины

**Objective.** To determine immunopathogenetic prognostic markers of the fertile potential in men with varicocele by the nature of changes in the induces of congenital and acquired immunity, to assess their trends after varicocelectomy in the context of maintaining the risk of infertility development.

**Methods.** 36 patients with the left-sided varicocele grade II-III and 25 patients after laparoscopic varicocelectomy underwent an immunological study. The control group consisted of 23 healthy men. The participants' age was 19-33 years. The cytokines concentration in the blood and seminal fluid were determined by ELISA. Flow cytometry was used for immunophenotyping of peripheral blood lymphocytes (absolute and relative numbers).

**Results.** In patients with the left-sided varicocele grade II-III concentration of cytokines in the peripheral blood and seminal fluid significantly differed from the subjects of the control group. Statistically significant differences were found in the concentration of various cytokines and quantitative indicators of the cellular level of acquired immunity in comparison to practically healthy men. Levels of the most cytokines in the serum of the peripheral blood and seminal fluid, quantitative indicators of lymphocyte populations, subpopulations of T-lymphocytes and their activation markers in the peripheral blood normalized three months after laparoscopic varicocelectomy.

ROC analysis of cytokine levels in the peripheral blood serum and seminal fluid in patients with varicocele grade II-III revealed a number of patterns. Significant immunopathogenetic prognostic markers of the fertile potential could be an increase of IFN- $\gamma$  levels more than 12.4 pg/ml in the peripheral blood serum, as well as levels of interleukins in the seminal fluid: for spIL-1 $\beta$  50.4 pg/ml and less, for spIL-6 more than 49.5 pg/ml.

**Conclusions.** Cytokine regulation changes in the reproductive and immune systems, determined by the imbalance in concentrations of the pro/anti-inflammatory cytokines at the local and peripheral levels, synthesized by T-lymphocytes and macrophages is a crucial immunopathogenetic factor in the development of immune-dependent infertility in patients with varicocele.

*Keywords:* varicocele, varicocelectomy, infertility, immunophenotyping, cytokines

**Novosti Khirurgii. 2019 Nov-Dec; Vol 27 (6): 662-673**

The articles published under CC BY NC-ND license

**Immunopathogenetic Prognostic Markers of the Fertile Potential in Men with Left-Sided Varicocele**

**Y.A. Nakonechnyi, A.M. Havrylyuk, A.Y. Nakonechnyi, V.V. Chopyak, M.M. Kurpysz**



### Научная новизна статьи

У пациентов с левосторонним варикоцеле II-III ст. впервые выявлены иммунопатогенетические прогностические факторы фертильного потенциала на локальном и центральном уровнях. Весомыми иммунопатогенетическими прогностическими маркерами фертильного потенциала в сыворотке периферической крови являются IFN- $\gamma$ , а в семенной жидкости — spIL-1 $\beta$  и spIL-6. Подавляющее большинство показателей, характеризующих патологию, после варикоцелэктомии демонстрирует положительную динамику.

### What this paper adds

The immunopathogenetic fertile potential prognostic markers at the local and central levels in patients with left-sided varicocele grade II-III have been identified for the first time. Significant immunopathogenetic prognostic markers of the fertile potential in the peripheral blood serum were IFN- $\gamma$ , and in the seminal fluid — spIL-1 $\beta$  and spIL-6. Varicocelectomy demonstrated a positive trend according to the vast majority of indicators, characterizing this pathology.

### Введение

Среди клинических симптомов варикоцеле выделяют повышенную температуру яичек, гипоксию, нарушение внутритестикулярного кровотока из-за застоя и гипертензии в дилатированных венах семенного канатика [1]. Длительный венозный застой со временем может привести к старту аутоагрессии и усилению оксидативного стресса в первую очередь в сперматозоидах [2].

Основными источниками избыточной продукции активных форм кислорода (АФК) и индукторами оксидативного стресса в семенной жидкости пациентов с варикоцеле являются патологические формы сперматозоидов и активированные воспалительным процессом лейкоциты. Продукция АФК ассоциирована с подвижностью сперматозоидов и продукцией их дегенеративных форм. Гипертермия и генерация АФК являются потенциальными механизмами варикоцеле-опосредованной дисфункции сперматозоидов. Дисбаланс про-/антиоксидантной системы семенной жидкости пациентов с варикоцеле играет ведущую роль в развитии бесплодия даже при нормоспермии. Оксидативный стресс провоцирует контакт спермальных антигенов с иммунокомпетентными клетками, в первую очередь с лимфоцитами [3]

А застой крови в варикозно-расширенных венах семенного канатика способствует удлинению во времени экспозиции антигенов мужской половой системы к лимфоцитам и создает анатомические предпосылки к их активации. Дисбаланс между синтезированными иммунными клетками про- и противовоспалительными цитокинами способствует развитию иммунного

ответа к спермальным антигенам, что угрожает формированием аутоагрессии [2, 4].

M. Fraczek et al. [5] рассматривает цитокин-опосредованный оксидативный стресс как гипотетическую причину формирования бесплодия. Цитокин-опосредованный оксидативный стресс и аутоиммунитет у пациентов с варикоцеле признаны ведущими иммунопатологическими механизмами бесплодия [6]. Цитокины являются неотъемлемой частью воспалительного эффекта при варикоцеле. Именно воспалительная реакция иммунной системы в виде оксидативного-нитрозативного стресса в яичках и апоптоза герминативных клеток приводит к нарушениям сперматогенеза и развитию бесплодия [7].

**Цель.** Определить иммунопатогенетические прогностические факторы фертильного потенциала у мужчин с варикоцеле по характеру изменений показателей врожденного и приобретенного иммунитета, оценить их тенденции после варикоцелэктомии в контексте сохранения риска формирования бесплодия.

### Материал и методы

Исследование охватывает 36 пациентов с левосторонним варикоцеле II-III ст. и 25 после лапароскопической варикоцелэктомии, которым выполняли иммунологические исследования цельной периферической крови, сыворотки крови и семенной жидкости (sp). Контрольную группу составили 23 практически здоровых мужчины. Мужчин из контрольной группы и пациентов в возрасте от 19 до 33 лет обследовали проспективно до лечения (I этап) и не ранее, чем через 3 месяца после лапароскопической резекции левой внутренней семенной вены (II этап).

Проведен расчет достоверности различий между группами по возрасту. Контрольная и опытная группы между собой не отличались ( $p > 0,05$ ).

Определение концентрации цитокинов в сыворотке крови и семенной жидкости (пг/мл) проводили иммуноферментным методом ELISA. Выделенную сыворотку крови и семенную жидкость хранили при  $-20^{\circ}\text{C}$  до начала исследований. Для определения уровней цитокинов-интерлейкинов (IL) (IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-10, IL-18) фактора некроза опухоли  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) и интерферона  $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) использовали наборы фирмы VectorBest (РФ), а для трансформирующего фактора роста  $\beta$ 1 (TGF- $\beta$ 1) — наборы фирмы DRG Diagnostics Германия. Исследования проводили в соответствии с инструкциями производителей на автоматическом анализаторе — микроплатформетре SUNRISE TECAN (Австрия) с автоматической приставкой Microwell ELISA (США).

В периферической крови иммунофенотипированием определяли абсолютные (г/л) и относительные (%) значения лимфоцитов. Для определения в периферической крови популяций Т-лимфоцитов CD3 $^{+}$ , В-лимфоцитов CD19 $^{+}$ , натуральных киллеров/киллеров — NK/К-клеток CD16 $^{+}$ /CD56 $^{+}$ ; субпопуляций Т-лимфоцитов (Т-лимфоцитов хелперов CD4 $^{+}$ , Т-лимфоцитов цитотоксических CD8 $^{+}$ , Т-лимфоцитов регуляторных CD4 $^{+}$ /CD25 $^{+}$  и Т-лимфоцитов хелперов, не активированных CD4 $^{+}$ /CD25 $^{-}$ ); а также Т-лимфоцитов, экспрессирующих поздний активационный маркер CD3 $^{+}$ HLA-DR $^{+}$ , и популяций клеток без Т-лимфоцитов, экспрессирующих поздний активационный маркер, вероятно В-лимфоцитов CD3 $^{-}$ HLA-DR $^{+}$ , использовали метод проточной цитометрии с моноклональными антителами, меченными флуоресцеином — BD Biosciences, США. Количество лимфоцитов определяли на проточном цитометре BD FACS Calibur, Becton Dickinson, США.

### Статистика

Статистические расчеты проводили с использованием интернет-портала «Медицинская статистика» (<http://medstatistic.ru/calculators/calcrisk.html>, «Free statistical calculators» MedCalc, MedCalc Software). Проведена проверка нормальности распределения путем анализа эксцесса и асимметрии с использованием тестов Kolmogorov-Smirnov и Shapiro-Wilk, а также анализ гистограмм и нормограмм распределения. В связи с негауссовским распределением применены непараметрические методы сравнения групп.

Уровень статистической достоверности отличий показателей у пациентов на до- и

послеоперационном этапах обследования и практически здоровых мужчин определяли по Mann-Whitney U test — соответственно  $p_{I, N}$ ,  $p_{II, N}$ . Для этого теста приводили U критерий с объемами выборок —  $U_{[n1; n2]}$ . Определяли медиану (Me), нижний (LQ) и верхний квартили (UQ). Цифровые результаты представляли в формате Me (LQ; UQ). В клинических наблюдениях для оценки случайности использовали проверку гипотез не только по значению  $p$ , но и по доверительным интервалам (ДИ). ДИ вычисляли с вероятностью 95%. Показатель подавали в формате [L-U], где L — lower (нижняя) и U — upper (верхняя) границы ДИ.

Для оценки диагностической точности полученной модели и выбора оптимального порога, или точки отсечения (optimal cut-off value), использовался ROC-анализ полученной логистической модели. Качество модели оценивали по показателю площади под кривой — AUC (Area Under Curve). Для поиска оптимальной точки отсечения выбирали такое значение вероятности формирования иммунонезависимого бесплодия у пациентов с левосторонним варикоцеле II-III ст., при котором определялся максимальный баланс (равенство) между показателями чувствительности (Se) и специфичности (Sp), с дальнейшим анализом таких показателей, как позитивная (+PV) и негативная прогностическая ценность (−PV), отношение правдоподобия положительного (+LR) и негативного результата (−LR).

### Результаты

У пациентов с левосторонним варикоцеле II-III ст. уровень ряда цитокинов в периферической крови и семенной жидкости существенно отличался от показателей у практически здоровых мужчин. По уровням цитокинов выявлены статистически высокосignимые отличия по сравнению с практически здоровыми мужчинами —  $p_{I, N} < 0,001$ . В частности, в сыворотке периферической крови и семенной жидкости пациентов существенно меньшим оказался уровень IL-1 $\beta$  — соответственно 1,32 пг/мл (0,32; 2,06) и 31,68 пг/мл (24,94; 36), и, наоборот, большими — уровни IL-6 — 4,72 пг/мл (2,33; 7,2) и 95,6 пг/мл (74,8; 126,1) и IL-18 — 296,6 пг/мл (245,62; 355,85) и 21,33 пг/мл (14,17; 27,05). Также в сыворотке периферической крови значительно выше нормы был уровень IFN- $\gamma$  — 18,81 пг/мл (14,35; 23,82), а в семенной жидкости — уровень TNF- $\alpha$  — 21,1 пг/мл (16,17; 23,28). Однако в эякуляте уровень TGF- $\beta$ 1 был очень низким — 95,25 пг/мл (78,18; 105,58) (таблицы 1, 2).

**Уровни цитокинов в сыворотке периферической крови больных с левосторонним варикоцеле II-III степеней на этапах лечения и у здоровых мужчин**

Таблица 1

Показатели	I этап (n=36)	II этап (n=25)		Контрольная группа (n=23)		U	Уровень значимости
		Me (LQ; UQ), пг/мл		[36; 23]			
IL-1β	1,32 (0,32; 2,06)	4,26 (3,4; 5,9)		3,45 (1,95; 3,87)		122,5	p <sub>I,N</sub> <0,001; p <sub>II,N</sub> <0,03
IL-6	4,72 (2,33; 7,2)	3,1 (2; 3,5)		2,14 (1,09; 3,2)		187	p <sub>I,N</sub> <0,001; p <sub>II,N</sub> <0,04
IL-10	0,75 (0,4; 1,14)	20,2 (14,9; 22,9)		1,12 (0,35; 1,47)		347,5	p <sub>II,N</sub> <0,001
IL-18	296,6 (245,62; 355,85)	161,2 (134,78; 191,3)		195,4 (117,07; 245,8)		142	p <sub>I,N</sub> <0,001
TGF-β1	493,8 (408,65; 589)	490,2 (412; 620,5)		485,9 (405,8; 524,4)		370	—
TNF-α	2,31 (1,49; 2,92)	2,8 (1,8; 3,9)		3,25 (1,39; 5,1)		332	—
IFN-γ	18,81 (14,35; 23,82)	19,7 (15,9; 22,5)		8,1 (5,9; 10,1)		43	p <sub>I,N</sub> <0,001; p <sub>II,N</sub> <0,001

**Уровни цитокинов в семенной жидкости больных с левосторонним варикоцеле II-III степеней на этапах лечения и у здоровых мужчин**

Таблица 2

Показатели	I этап (n=36)	II этап (n=25)		Контрольная группа (n=23)		U	Уровень значимости
		Me (LQ; UQ), пг/мл		[36; 23]			
spIL-1β	31,68 (24,94; 36)	185,3 (145; 235,9)		75,4 (55,6; 94,1)		56	p <sub>I,N</sub> <0,001; p <sub>II,N</sub> <0,001
spIL-6	95,6 (74,8; 126,1)	74,6 (55,6; 85,2)		29,8 (12,5; 35,1)		25	p <sub>I,N</sub> <0,001; p <sub>II,N</sub> <0,001
spIL-10	12,38 (7,31; 14,8)	18,2 (14,5; 25,3)		10,2 (3,7; 17,4)		384	p <sub>II,N</sub> <0,001
spIL-18	21,33 (14,17; 27,05)	11,4 (7,2; 14,2)		9,8 (5,7; 12,6)		101	p <sub>I,N</sub> <0,001
spTGF-β1	95,25 (78,18; 105,58)	132,5 (100,5; 147)		115,9 (98,5; 131,1)		199	p <sub>I,N</sub> <0,001
spTNF-α	21,1 (16,17; 23,28)	14,5 (10; 21,1)		12,4 (8,9; 15)		107	p <sub>I,N</sub> <0,001
spIFN-γ	64,13 (53,11; 76,47)	66,7 (55,6; 75,8)		58,9 (50,2; 71,5)		338	—

Также установлены изменения показателей клеточного звена приобретенного иммунитета у пациентов с левосторонним варикоцеле II-III ст. Так, относительно контрольной группы установлено статистически высокозначимое повышение относительного и абсолютного количества Т-лимфоцитов регуляторных  $CD4^+/CD25^+$  — 23,5% (16,5; 30,5), 0,56 г/л (0,42; 0,72),  $p_{I,N} < 0,001$ , и снижение Т-лимфоцитов хелперов не активированных  $CD4^+/CD25^-$  — 14,65 (9,85; 17,65),  $p_{I,N} < 0,001$ ; 0,3 г/л (0,16; 0,47),  $p_{I,N} < 0,01$ . Кроме этого, достоверно меньшим оказалось и абсолютное количество натуральных киллеров/киллеров  $CD16^+/CD56^+$  — 0,33 г/л (0,2; 0,41)  $p_{I,N} < 0,04$  при более высоком относительном количестве Т-лимфоцитов  $CD3^+$  — 73,45 (67,6; 81,35),  $p_{I,N} < 0,04$  (таблица 3).

Через 3 месяца после лапароскопической варикоцелэктомии уровни большинства цитокинов в сыворотке периферической крови и семенной жидкости имели тенденцию к нормализации. И особенно это касается всех видов лимфоцитов в периферической крови, по которым нивелировались достоверные различия относительно показателей у практически здоровых мужчин. Однако негативную динамику мы обнаружили в выраженном возрастании уровня IL-10 в сыворотке периферической крови и семенной жидкости — соответственно до 20,2 пг/мл (14,9; 22,9),  $p_{II,N} < 0,001$  и 18,2 пг/мл (14,5; 25,3),  $p_{II,N} < 0,001$ . Продолжал также повышаться в сыворотке периферической крови и уровень IFN- $\gamma$  — 19,7 пг/мл (15,9; 22,5),  $p_{II,N} < 0,001$ , а в семенной жидкости — уровень spIL-1 $\beta$  — 185,3 пг/мл (145; 235,9),  $p_{II,N} < 0,001$ , с параллельным резким снижением уровня spIL-6 — 74,6 пг/мл (55,6; 85,2),  $p_{II,N} < 0,001$  (таблицы 1, 2).

ROC-анализ уровней цитокинов в сыворотке периферической крови и в семенной жидкости пациентов с левосторонним варикоцеле II-III ст. выявил ряд интересных изменений. Мощным иммунопатогенетическим прогностическим фактором фертильного потенциала по результатам наших исследований, можно считать рост в сыворотке периферической крови пациентов с левосторонним варикоцеле II-III ст. уровня IFN- $\gamma$  более 12,4 пг/мл, Se=88,89 [73,9-96,9], Sp=91,3 [72-98,9], +LR=10,22 [2,7-38,6], -LR=0,12 [0,05-0,3]. Также весомыми иммунопатогенетическими предикторами фертильного потенциала при этой патологии являются уровни IL-1 $\beta$  и IL-6 в семенной жидкости: spIL-1 $\beta$  — 50,4 пг/мл и меньше, Se=97,22 [85,5-99,9], Sp=82,61 [61,2-95], +LR=5,59 [2,3-13,6], -LR=0,03 [0,01-0,2] и spIL-6 — более 49,5 пг/мл, Se=94,44 [81,3-99,3], Sp=95,65 [78,1-99,9], +LR=21,72 [3,2-148], -LR=0,06 [0,02-0,2] (рис. 1-3).

## Обсуждение

Проведенные исследования периферической крови и семенной жидкости обнаружили ряд изменений ключевых иммунологических факторов и особенно цитокинов у пациентов с левосторонним варикоцеле II-III ст.

Данные литературы также свидетельствуют, что у бесплодных мужчин с варикоцеле обнаружена ассоциация напряженности оксидативного стресса и нарушений цитокиновой регуляции иммунного ответа. Известно, что сперматозоиды у фертильных мужчин и пациентов с олиго-терато-астенозооспермией или бесплодием могут синтезировать IL-1. Поскольку IL-1 $\beta$  в физиологических концентрациях способствует созреванию сперматозоидов, то его снижение в сыворотке крови и семенной жидкости приводит к снижению количества сперматозоидов. Ряд исследований указывает на то, что IL-1 $\beta$  влияет на пролиферацию и дифференциацию В-лимфоцитов, стимулирует продукцию IFN- $\gamma$  Т-лимфоцитами и синтез IL-6 макрофагами, лейкоцитами, моноцитами, эпителиоцитами и фибробластами [8]. IL-1 $\beta$  регулирует тестикулярную функцию, а именно пролиферацию клеток Лейдига и Сертоли, герминативных клеток и соответственно стимулирует сперматогенез. Поэтому снижение IL-1 $\beta$  является угрожающим для фертильности [2].

Считаем, что обнаруженное у пациентов с левосторонним варикоцеле II-III ст. статистически высокозначимое снижение уровня IL-1 $\beta$  в сыворотке периферической крови и семенной жидкости ассоциируется с последующим увеличением и так достоверно высоких уровней IL-6 и IFN- $\gamma$ .

Среди наиболее важных факторов, регулирующих защитные реакции организма, включая воспалительный процесс, выделяют IL-6. Он стимулирует развитие и функционирование Т- и В-лимфоцитов, то есть адекватный иммунный ответ [8]. IL-6 действует на В-лимфоциты и индуцирует синтез иммуноглобулинов секреторного и циркулирующего типов, включая аутоантитела [9], активирует Т-лимфоциты, способствует окончательной дифференциации В-лимфоцитов в плазматические клетки и переклюкает синтез иммуноглобулинов на класс IgG [8]. Исследователи обнаружили повышенный уровень IL-6 у мужчин с иммунозависимым бесплодием, лейкоцитоспермией и у больных с варикоцеле [2, 10].

Предполагаем, что повышение уровня IL-6 у пациентов с левосторонним варикоцеле II-III ст. является настораживающим фактором относительно вероятности активации иммунной системы спермальными антигенами и, соответственно, критерием риска аутоагрессии.

Таблица 3

**Количественные показатели популяции лимфоцитов и субпопуляция Т-лимфоцитов  
у больных с левосторонним варикоцеле II-III степеней на этапах лечения и у здоровых мужчин**

Показатели	I этап (n=36)		II этап (n=25)		Контрольная группа (n=23)		U		Уровень значимости
	Me (LQ; UQ)		Me (LQ; UQ)		Me (LQ; UQ)		[36; 23]	[25; 23]	
CD3 <sup>+</sup>	%	73,45 (67,6; 81,35)	65,9 (63,3; 71,2)	66,87 (50,5; 78)	278,5	279,5	p <sub>I,N</sub> <0,04		
	г/л	1,68 (1,05; 2,33)	1,2 (0,78; 1,85)	1,41 (0,75; 1,9)	325,5	267,5	—		
CD19 <sup>+</sup>	%	9,5 (7; 12,5)	11,2 (5,5; 17,4)	10,4 (8,4; 11,5)	381,5	259,5	—		
	г/л	0,21 (0,13; 0,3)	0,22 (0,12; 0,29)	0,23 (0,12; 0,3)	410	281,5	—		
CD16 <sup>+</sup> /CD56 <sup>+</sup>	%	15,5 (10,5; 22)	20,9 (15,9; 26,9)	20,1 (14,6; 24,5)	300	261	—		
	г/л	0,33 (0,2; 0,41)	0,42 (0,22; 0,71)	0,44 (0,245; 0,52)	276,5	287	p <sub>I,N</sub> <0,04		
CD4 <sup>+</sup>	%	41,3 (34; 47)	40,5 (34,8; 49,6)	38,9 (31; 43,5)	337	234	—		
	г/л	0,96 (0,79; 1,07)	0,75 (0,46; 0,98)	0,82 (0,46; 1,15)	362	255	—		
CD8 <sup>+</sup>	%	29,4 (23,5; 36)	24,56 (20,1; 29,9)	26,9 (17,4; 31,45)	326	272	—		
	г/л	0,71 (0,4; 0,79)	0,48 (0,24; 0,5)	0,58 (0,29; 0,9)	366	237	—		
CD4 <sup>+</sup> /CD25 <sup>+</sup>	%	23,5 (16,5; 30,5)	19,5 (13,9; 24,1)	14,75 (11,45; 18,35)	199	199,5	p <sub>I,N</sub> <0,001		
	г/л	0,56 (0,42; 0,72)	0,34 (0,23; 0,42)	0,35 (0,22; 0,46)	163	281	p <sub>I,N</sub> <0,001		
CD4 <sup>+</sup> /CD25 <sup>-</sup>	%	14,65 (9,85; 17,65)	19,3 (14,1; 24)	22,39 (15,48; 27,45)	147	237	p <sub>I,N</sub> <0,01		
	г/л	0,3 (0,16; 0,47)	0,32 (0,12; 0,6)	0,45 (0,35; 0,54)	242	218,5	p <sub>I,N</sub> <0,01		
CD3 <sup>+</sup> HLA-DR <sup>+</sup>	%	5,35 (4,35; 7)	4,1 (3,6; 5,2)	4,9 (3,95; 5,74)	342,5	218,5	—		
	г/л	0,11 (0,1; 0,14)	0,09 (0,07; 0,11)	0,1 (0,08; 0,13)	301,5	216,5	—		
CD3 <sup>-</sup> HLA-DR <sup>+</sup>	%	11,15 (7,5; 14,5)	12,2 (7,1; 14,9)	10,49 (9,54; 12,45)	399	284	—		
	г/л	0,25 (0,19; 0,3)	0,23 (0,12; 0,29)	0,24 (0,15; 0,32)	400	256,5	—		

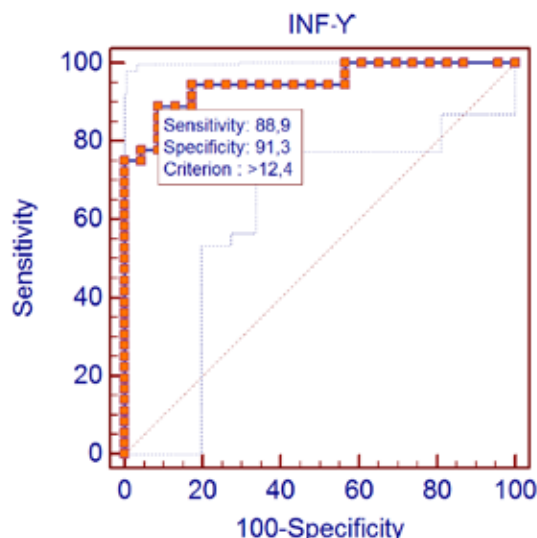


Рис. 1. ROC-анализ значимости уровня  $\text{INF-}\gamma$  в сыворотке периферической крови как иммунопатогенетического прогностического фактора фертильного потенциала у пациентов с левосторонним варикоцеле II-III степеней.

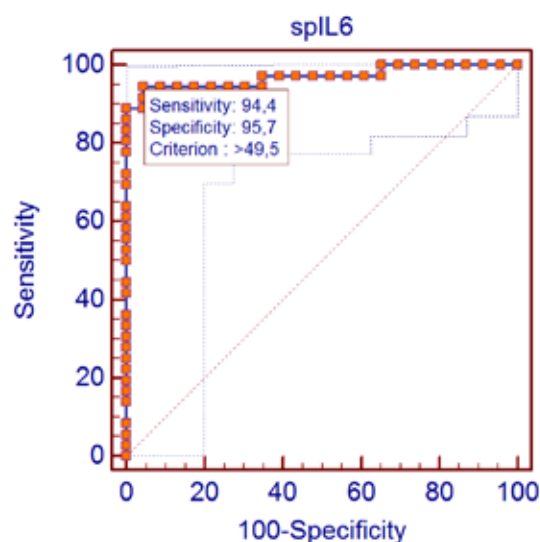


Рис. 2. ROC-анализ значимости уровня  $\text{spIL-6}$  в семенной жидкости как иммунопатогенетического прогностического фактора фертильного потенциала у пациентов с левосторонним варикоцеле II-III степеней.

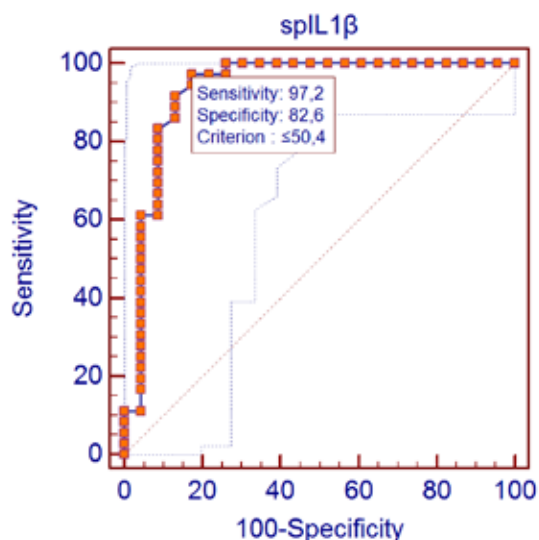


Рис. 3. ROC-анализ значимости уровня  $\text{spIL-1}\beta$  в семенной жидкости как иммунопатогенетического прогностического фактора фертильного потенциала у пациентов с левосторонним варикоцеле II-III степеней.

Цитокин  $\text{TNF-}\alpha$  также вовлечен в регуляцию репродуктивной системы мужчин. Его повышение в семенной жидкости индуцирует апоптоз сперматозоидов. Уровень  $\text{TNF-}\alpha$  определяет величину популяции герминативных клеток, поскольку вызывает гибель клеток каспазо-зависимым путем апоптоза.  $\text{TNF-}\alpha$  также активирует про-MMP-9 (матриксная металлопротеиназа) зависимый путь расщепления коллагена базальной мембраны, что приводит к повреждению барьера «кровь-яичко».  $\text{TNF-}\alpha$  стимулирует клетки Сертоли и перитубуляр-

ные клетки к продукции оксида азота (NO), а индуцибельная NO-синтаза регулирует синтез  $\text{TNF-}\alpha$  [11].

Поэтому установленное у пациентов с левосторонним варикоцеле II-III ст. повышение уровня  $\text{TNF-}\alpha$  в сыворотке периферической крови и семенной жидкости вызывает беспокойство относительно фертильного потенциала. После операции уровень  $\text{TNF-}\alpha$  снизился, но остался достоверно более высоким по сравнению с контрольной группой.

К основным иммунным факторам, отражающим риск ухудшения фертильности больных варикоцеле, относят концентрацию  $\text{INF-}\gamma$  в крови и  $\text{TNF-}\alpha$  и  $\text{TGF-}\beta 1$  в семенной жидкости. Из них наиболее важным является  $\text{TNF-}\alpha$ . Однако некоторые авторы не обнаружили различий между уровнями проапоптотичного  $\text{TNF-}\alpha$  в семенной жидкости пациентов с варикоцеле и фертильных мужчин [10, 12].

В общем, повышение уровней провоспалительных цитокинов в сыворотке крови характерно для аутоиммунных заболеваний. И чрезмерная экспрессия рецепторов к провоспалительным цитокинам в яичках является фактором риска при заболеваниях с нарушениями сперматогенеза и стероидогенеза [13].

Известно, что 60% T-reg лимфоцитов экспрессирует поздний активационный маркер – рецептор HLA-DR. Поэтому у мужчин с идиопатическим бесплодием наряду с увеличением количества лимфоцитов с экспрессированным HLA-DR маркером исследователи зафиксировали увеличение T-лимфоцитов регуляторных  $\text{CD4}^+/\text{CD25}^+$ . Их активация, а также активация



Т-лимфоцитов хелперов 2 типа приводит к повышению продукции противовоспалительных цитокинов. Так, повышение IL-18 у этих пациентов является отражением активации врожденного иммунитета в ответ на локальную презентацию антигенов дендритными клетками, а также запуска системы каспаз, которые являются ключевыми в запуске программируемой смерти клеток от апоптоза. Изменения иммунологических показателей врожденного иммунитета отражают мобилизацию защитных сил организма для предотвращения аутоагрессии. Именно у мужчин с аутоиммунными болезнями предиктором снижения подвижности сперматозоидов является изменение количества циркулирующих Т-лимфоцитов регуляторных CD4<sup>+</sup>/CD25<sup>+</sup> [14].

Такие же тенденции со статистически высокосignификантными различиями в отношении практически здоровых мужчин отмечены у пациентов с левосторонним варикоцеле II–III ст., а именно повышение уровней IL-6 и IL-18 как в периферической крови, так и в семенной жидкости и увеличение количества Т-лимфоцитов регуляторных CD4<sup>+</sup>/CD25<sup>+</sup>. Из всех известных субпопуляций Т-лимфоцитов наиболее важной субпопуляцией являются Т-лимфоциты хелперы CD3<sup>+</sup>/CD4<sup>+</sup>. В зависимости от репертуара синтезируемых ими цитокинов, Т-хелперы подразделяются на Т-хелперы 1 типа, которые обеспечивают формирование клеточного типа приобретенного иммунного ответа (Тх-1), и 2 типа, которые способствуют реализации иммунного ответа по гуморальному типу (Тх-2). Изменение соотношения Тх-1/Тх-2 в сторону Тх-1 приводит к нарушению иммунной регуляции, проявляющемуся чрезмерной воспалительной реакцией. В периферических тканях Т-лимфоциты хелперы дифференцируются в Тх-1 или Тх-2. Тх-1 синтезируют IL-2 и IFN- $\gamma$ , а Тх-2 — IL-4, IL-5 и IL-10. При воспалении с аутоиммунным компонентом роль Тх-1 более важна. Индукция и прогрессирование воспалительных заболеваний с аутоиммунным компонентом требуют присутствия клеток субпопуляции Т-лимфоцитов CD4<sup>+</sup>. Депонированные в ткани яичка Т-лимфоциты CD4<sup>+</sup> стимулируют макрофаги и фибробласты к продукции провоспалительных IL-1 $\beta$ , IL-6 и TNF- $\alpha$ , а также активируют В-лимфоциты. Аутореактивные Т-хелперы CD4<sup>+</sup> 1-го типа ассоциируются с развитием многих органо-специфических аутоиммунных болезней. При этом существенно повышается их количество и увеличивается уровень IFN- $\gamma$  и TNF- $\alpha$ , которые они синтезируют. Дисбаланс между различными субпопуляциями Т-лимфоцитов приводит к

хроническому тестикулярному воспалению — аутоиммунному орхиту [15].

Активационный маркер CD3<sup>+</sup>HLA-DR<sup>+</sup> является поздним маркером активации Т-лимфоцитов. Лимфоциты в состоянии активации нуждаются в сигнале для начала пролиферации. Для Т-лимфоцитов CD4<sup>+</sup> это молекулы системы HLA II класса сублокуса D — DR, DP и DQ, которые представляют к активному иммунному ответу не только чужеродные антигены (например бактериальные), но и аутоантигены. Повышенное количество клеток, отражающих экспрессию генов HLA-DR, подтверждает важность Т-лимфоцитов CD4<sup>+</sup> в развитии аутоиммунизации [8].

Поэтому выявленное нами у пациентов с левосторонним варикоцеле II–III ст. повышение количества Т-лимфоцитов, экспрессирующих поздний активационный маркер CD3<sup>+</sup>HLA-DR<sup>+</sup>, может быть фактором риска аутоиммунизации.

Любые процессы в организме сопровождаются изменением степени экспрессии, то есть появлением или исчезновением поверхностных маркеров иммунокомпетентных клеток или внутриклеточных функциональных молекул. Так они приспосабливаются к условиям, стремясь наиболее эффективно выполнять свойственные им регуляторные или эффекторные функции. Поскольку изучение количества лимфоцитов различных фенотипов при воспалительных заболеваниях в настоящее время считается малоинформативным, для прогнозирования иммунопатологии следует применять и другие методы. В частности, определять уровень цитокинов, которые отражают функции иммунных клеток на локальном и периферическом уровнях.

При экспериментальном варикоцеле обнаружена усиленная экспрессия IL-1 $\alpha$  и IL-1 $\beta$  в яичках, что подтверждает цитокин-опосредованный оксидативный стресс. IL-1 $\beta$  является одним из наиболее сильных провоспалительных факторов, который не только стимулирует Т-лимфоциты к синтезу провоспалительных цитокинов IL-2, IL-6 и IFN- $\gamma$ , но и способствует дифференциации сперматозоидов, регуляции сперматогенеза и продукции колониестимулирующих ростовых факторов (G-CSF — гранулоцитарного и M-CSF — макрофагального). Поэтому повышение IL-1 $\beta$  после варикоцелэктомии является хорошим прогностическим индикатором восстановления сперматогенеза. Наряду с этим после варикоцелэктомии снижается продукция IL-6 и других маркеров оксидативного стресса [16].

Данные литературы указывают, что усилен-



ние продукции провоспалительных IL-1 $\beta$  и IL-6 отражает нарушение цитокиновой регуляции дифференциации сперматозоидов, которое приводит к бесплодию [5]. Цитокины могут быть медиаторами оксидативного стресса и соответственно, потенциально влиять на окислительный потенциал. В частности, у пациентов с варикоцеле в семенной жидкости выявлено достоверное повышение IL-6 и его снижение после варикоцелэктомии. Повышенная концентрация IL-6 коррелирует с усилением оксидативного стресса [2]. Его считают мощным провоспалительным цитокином и главной составляющей патогенеза аутоиммунных болезней, потому что он стимулирует продукцию IgG [9].

Повышение после хирургического лечения в сыворотке крови и семенной жидкости больных с левосторонним варикоцеле II-III ст. уровня IL-1 $\beta$  наряду со снижением IL-6 вдохновляет на оптимистический прогноз относительно фертильности. Однако достоверное повышение IL-10 после операции свидетельствует, что не всегда хирургическая коррекция варикоцеле безапелляционно улучшает фертильность мужчин.

Цитокин IL-10 угнетает клеточный тип иммунного ответа и воспалительный процесс, в том числе ингибирует продукцию свободных кислородных радикалов и провоспалительных цитокинов. Также цитокин IL-10 поддерживает жизнеспособность сперматозоидов и обеспечивает необходимый иммуносупрессивный статус семенной жидкости. В семенной жидкости здоровых мужчин концентрация противовоспалительного IL-10 умеренно повышена, что обеспечивает иммунологический баланс и защищает сперматозоиды от повреждений. Кроме этого, IL-10 усиливает экспрессию HLA-DR [8].

Таким образом, обнаруженное в наших исследованиях повышение уровня IL-10 на 3-ем месяце после варикоцелэктомии является хорошим прогностическим фактором улучшения качества сперматозоидов. В сыворотке крови и семенной жидкости еще удерживался статистически значимый высокий уровень IL-10. После вмешательства уже установлена тенденция к снижению количества Т-лимфоцитов, экспрессирующих поздний активационный маркер CD3<sup>+</sup>HLA-DR<sup>+</sup>.

Цитокин IL-18 индуцирует NK-клетки к продукции IFN- $\gamma$ , а Т-лимфоциты — к трансформации в Th-1, стимулирует Т-лимфоциты, FasL-опосредованную цитотоксичность NK-клеток, синтез провоспалительных цитокинов IL-12 и IFN- $\gamma$  Т-хелперами 1 типа, снижает продукцию IL-10 Т-хелперами 2 типа, действует

как индуктор апоптоза. Снижение IL-18 после варикоцелэктомии прогностически является положительным фактором сохранения целостности сперматозоидов [8].

Цитокин TNF- $\alpha$  поддерживает противовоспалительный репаративный статус в уrogenитальном тракте здоровых мужчин, выживание герминативных клеток в семенной жидкости, регулирует проницаемость барьера «кровь-яичко» и стероидогенез, стимулирует секреторную функцию клеток Сертоли и Лейдига, усиливает действие ФСГ. Воспалительный процесс ассоциируется с повышением уровня свободных кислородных радикалов и оксидативного стресса, которые в свою очередь влияют на фертильность мужчин. И именно высокая концентрация TNF- $\alpha$  в семенной жидкости отражает наличие воспалительного процесса, который побуждает сперматозоиды к усиленному синтезу свободных кислородных радикалов и вторично влияет на их подвижность. Снижение уровня TNF- $\alpha$  в семенной жидкости после варикоцелэктомии является положительным фактором поддержки функциональных параметров сперматозоидов [8].

У обследованных нами мужчин после лапароскопической варикоцелэктомии в семенной жидкости достоверно снизился уровень TNF- $\alpha$ , что свидетельствует об отсутствии активации Th-1. Именно снижение количества Т-лимфоцитов хелперов CD4<sup>+</sup> после оперативного вмешательства ослабляет риск развития аутоагрессии. А умеренное повышение уровня TNF- $\alpha$  в периферической крови, которое мы получили после варикоцелэктомии, свидетельствует о поддержке нормальной функции сперматозоидов.

Т-лимфоциты CD3<sup>+</sup> не только обеспечивают функционирование клеточного звена приобретенного (специфического) иммунитета, но и регуляцию иммунного ответа по хелперно/супрессорно-регуляторному типу [8]. Обнаруженное у больных с левосторонним варикоцеле II-III ст. повышение количества Т-лимфоцитов свидетельствует о готовности клеточного звена приобретенного иммунитета ответить на какой-то антиген — возможно аутологичный. Снижение их числа после варикоцелэктомии прогностически является хорошей тенденцией.

Воспалительный процесс коррелирует с повышением количества В-лимфоцитов CD19<sup>+</sup>, потому что они обеспечивают синтез иммуноглобулинов различных классов высокой специфичности. Увеличение количества В-лимфоцитов в периферической крови связано с повышением уровня провоспалительных цитокинов в сыворотке крови [8].

У пациентов с левосторонним варикоцеле II-III ст. выявлено незначительное снижение количества В-лимфоцитов CD19<sup>+</sup> относительно показателей у практически здоровых мужчин. А после операции отмечено их существенное увеличение. Причем относительные значения стали несколько выше, а абсолютные все же остались ниже нормы. Увеличение количества В-лимфоцитов в периферической крови через 3 месяца после варикоцелэктомии может быть фактором риска усиления продукции антител и, в частности, риска аутоантителообразования. Однако остается определенный процент больных с варикоцеле, у которых хирургическая коррекция патологии все же не сопровождается восстановлением адекватного фертильного потенциала. Это соответствует данным других исследователей о том, что варикоцелэктомия только в половине случаев угнетает аутоиммунный ответ к сперматозоидам [6].

### Заключение

Вопрос, какой именно тип формирования иммунозависимого бесплодия является ведущим у пациентов с варикоцеле, остается неизученным. В литературе постоянно продолжается дискуссия: можно ли варикоцеле считать аутоиммунным органоспецифическим заболеванием? В пользу этого суждения свидетельствует тот факт, что у мужчин с варикоцеле обнаружили дисрегуляцию Т-зависимого иммунитета, которая может привести к формированию антиспермальных аутоантител и бесплодию. Подавляющее большинство изменений иммунологических показателей, характеризующих патологию, после варикоцелэктомии имеют положительную динамику. Однако проблема бесплодия у части пациентов даже после хирургического лечения остается нерешенной. Поэтому для понимания иммунопатогенеза бесплодия при варикоцеле важно изучать не только изменения количества иммунных клеток, но и концентрации синтезируемых ими цитокинов, регулирующих их функцию и степень оксидативного стресса. Мониторинг цитокин-ассоциированного оксидативного стресса по лабораторным показателям является необходимым условием наблюдения за пациентами после варикоцелэктомии, ведь неконтролируемый оксидативный стресс приводит к повреждению структуры сперматозоида и потере их функций. Особенно подчеркиваем актуальность цитокиновой регуляции репродуктивной функции у мужчин с варикоцеле и важность оценки цитокинового профиля на локальном уровне — в семенной жидкости, имеющей ключевое

значение для прогнозирования фертильного потенциала сперматозоидов.

В частности, весомыми иммунопатогенетическими прогностическими факторами фертильного потенциала у больных с варикоцеле II-III ст. можно считать повышение в сыворотке периферической крови уровня IFN- $\gamma$  более 12,4 пг/мл, а также изменения уровней интерлейкинов в семенной жидкости: spIL-1 $\beta$  — 50,4 пг/мл и меньше и spIL-6 — более 49,5 пг/мл.

### Финансирование

Работа выполнялась в соответствии с планами научных исследований кафедр урологии ФПДО и клинической иммунологии и аллергологии Львовского национального медицинского университета имени Данила Галицкого и отдела иммунобиологии, репродукции и стволовых клеток Института генетики человека Польской академии наук. Финансовой поддержки со стороны компаний-производителей лекарственных препаратов авторы не получали.

### Конфликт интересов

Авторы заявляют, что конфликт интересов отсутствует.

### Этические аспекты

Положительное заключение на представленные научные исследования комиссии по вопросам этики научных исследований, экспериментальных разработок и научных производений Львовского национального медицинского университета имени Данила Галицкого от 23.02.2017, протокол № 5.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Shiraishi K, Takihara H, Matsuyama H. Elevated scrotal temperature, but not varicocele grade, reflects testicular oxidative stress-mediated apoptosis. *World J Urol.* 2010 Jun;28(3):359-64. doi: 10.1007/s00345-009-0462-5
2. Shiraishi K, Matsuyama H, Takihara H. Pathophysiology of varicocele in male infertility in the era of assisted reproductive technology. *Int J Urol.* 2012 Jun;19(6):538-50. doi: 10.1111/j.1442-2042.2012.02982.x
3. Majzoub A, Esteves S, Gosálvez J, Agarwal A. Specialized sperm function tests in varicocele and the future of andrology laboratory. *Asian J Androl.* 2016 Mar-Apr;18(2):205. doi: 10.4103/1008-682X.172642
4. Pastuszak AW, Wang R. Varicocele and testicular function. *Asian J Androl.* 2015 Jul-Aug;17(4):659-67. doi: 10.4103/1008-682X.153539
5. Fraczek M, Kurpisz M. Cytokines in the male reproductive tract and their role in infertility disorders. *J Reprod Immunol.* 2015 Apr;108:98-104. doi: 10.1016/j.jri.2015.02.001

6. Bozhedomov VA, Lipatova NA, Alexeev RA, Alexandrova LM, Nikolaeva MA, Sukhikh GT. The role of the antisperm antibodies in male infertility assessment after microsurgical varicocelectomy. *Andrology*. 2014 Nov;2(6):847-55. doi: 10.1111/j.2047-2927.2014.00254.x
7. Sarkar O, Bahrainwala J, Chandrasekaran S, Kothari S, Mathur PP, Agarwal A. Impact of inflammation on male fertility. *Front Biosci (Elite Ed)*. 2011 Jan 1;3:89-95. doi: 10.2741/e223
8. Golab J, Jakobisiak M, Lasek W, Stoklosa T. Immunologia (nowe wydanie). Warszawa: Wydawnictwo Naukowe PWN; 2015. 498 p.
9. Agarwal A, Prabakaran S, Allamaneni SS. Relationship between oxidative stress, varicocele and infertility: a meta-analysis. *Reprod Biomed Online*. 2006 May;12(5):630-33. doi: 10.1016/S1472-6483(10)61190-X
10. Moretti E, Collodel G, Mazzi L, Campagna M, Iaconi F, Figura N. Resistin, interleukin-6, tumor necrosis factor-alpha, and human semen parameters in the presence of leukocytospermia, smoking habit, and varicocele. *Fertil Steril*. 2014 Aug;102(2):354-60. doi: 10.1016/j.fertnstert.2014.04.017
11. Jarazo-Dietrich S, Jacobo P, Pérez CV, Guazzone VA, Lustig L, Theas MS. Up regulation of nitric oxide synthase-nitric oxide system in the testis of rats undergoing autoimmune orchitis. *Immunobiology*. 2012 Aug;217(8):778-87. doi: 10.1016/j.imbio.2012.04.007
12. Wang H, Lv Y, Hu K, Feng T, Jin Y, Wang Y, Huang Y, Chen B. Seminal plasma leptin and spermatozoon apoptosis in patients with varicocele and leucocytospermia. *Andrologia*. 2015 Aug;47(6):655-61. doi: 10.1111/and.12313
13. Duan YG, Yu CF, Novak N, Bieber T, Zhu CH, Schuppe HC, Haidl G, Allam JP. Immunodeviation towards a Th17 immune response associated with testicular damage in azoospermic men. *Int J Androl*. 2011 Dec;34(6 Pt 2):e536-45. doi: 10.1111/j.1365-2605.2010.01137.x
14. Гаврилюк АМ, Чопяк ВВ, Криль ІЙ, Курпіш М. Профіль популяцій та субпопуляцій Т-лімфоцитів периферичної крові чоловіків із порушеннями репродуктивною функцією. *Імунологія та Алергологія: Наука і Практика*. 2014;(1):14-26. [http://nbuv.gov.ua/UJRN/Ita\\_2014\\_1\\_4](http://nbuv.gov.ua/UJRN/Ita_2014_1_4)
15. Jacobo P, Pérez CV, Theas MS, Guazzone VA, Lustig L. CD4+ and CD8+ T cells producing Th1 and Th17 cytokines are involved in the pathogenesis of autoimmune orchitis. *Reproduction*. 2011 Feb;141(2):249-58. doi: 10.1530/REP-10-0362
16. Moretti E, Cosci I, Spreafico A, Serchi T, Cuppone AM, Collodel G. Semen characteristics and inflammatory mediators in infertile men with different clinical diagnoses. *Int J Androl*. 2009 Dec;32(6):637-46. doi: 10.1111/j.1365-2605.2008.00911.x
- 2042.2012.02982.x
3. Majzoub A, Esteves S, Gosálvez J, Agarwal A. Specialized sperm function tests in varicocele and the future of andrology laboratory. *Asian J Androl*. 2016 Mar-Apr;18(2):205. doi: 10.4103/1008-682X.172642
4. Pastuszak AW, Wang R. Varicocele and testicular function. *Asian J Androl*. 2015 Jul-Aug;17(4):659-67. doi: 10.4103/1008-682X.153539
5. Fraczek M, Kurpisz M. Cytokines in the male reproductive tract and their role in infertility disorders. *J Reprod Immunol*. 2015 Apr;108:98-104. doi: 10.1016/j.jri.2015.02.001
6. Bozhedomov VA, Lipatova NA, Alexeev RA, Alexandrova LM, Nikolaeva MA, Sukhikh GT. The role of the antisperm antibodies in male infertility assessment after microsurgical varicocelectomy. *Andrology*. 2014 Nov;2(6):847-55. doi: 10.1111/j.2047-2927.2014.00254.x
7. Sarkar O, Bahrainwala J, Chandrasekaran S, Kothari S, Mathur PP, Agarwal A. Impact of inflammation on male fertility. *Front Biosci (Elite Ed)*. 2011 Jan 1;3:89-95. doi: 10.2741/e223
8. Golab J, Jakobisiak M, Lasek W, Stoklosa T. Immunologia (nowe wydanie). Warszawa: Wydawnictwo Naukowe PWN; 2015. 498 p.
9. Agarwal A, Prabakaran S, Allamaneni SS. Relationship between oxidative stress, varicocele and infertility: a meta-analysis. *Reprod Biomed Online*. 2006 May;12(5):630-33. doi: 10.1016/S1472-6483(10)61190-X
10. Moretti E, Collodel G, Mazzi L, Campagna M, Iaconi F, Figura N. Resistin, interleukin-6, tumor necrosis factor-alpha, and human semen parameters in the presence of leukocytospermia, smoking habit, and varicocele. *Fertil Steril*. 2014 Aug;102(2):354-60. doi: 10.1016/j.fertnstert.2014.04.017
11. Jarazo-Dietrich S, Jacobo P, Pérez CV, Guazzone VA, Lustig L, Theas MS. Up regulation of nitric oxide synthase-nitric oxide system in the testis of rats undergoing autoimmune orchitis. *Immunobiology*. 2012 Aug;217(8):778-87. doi: 10.1016/j.imbio.2012.04.007
12. Wang H, Lv Y, Hu K, Feng T, Jin Y, Wang Y, Huang Y, Chen B. Seminal plasma leptin and spermatozoon apoptosis in patients with varicocele and leucocytospermia. *Andrologia*. 2015 Aug;47(6):655-61. doi: 10.1111/and.12313
13. Duan YG, Yu CF, Novak N, Bieber T, Zhu CH, Schuppe HC, Haidl G, Allam JP. Immunodeviation towards a Th17 immune response associated with testicular damage in azoospermic men. *Int J Androl*. 2011 Dec;34(6 Pt 2):e536-45. doi: 10.1111/j.1365-2605.2010.01137.x
14. Havrylyuk A, Chopyak V, Kril I, Kurpisz M. The types of populations and subpopulations of t-lymphocytes in peripheral blood of men with disturbances their fertility function. *Imunologija ta Alergologija: Nauka i Praktika*. 2014;(1):14-26. [http://nbuv.gov.ua/UJRN/Ita\\_2014\\_1\\_4](http://nbuv.gov.ua/UJRN/Ita_2014_1_4) (In Ukr.)
15. Jacobo P, Pérez CV, Theas MS, Guazzone VA, Lustig L. CD4+ and CD8+ T cells producing Th1 and Th17 cytokines are involved in the pathogenesis of autoimmune orchitis. *Reproduction*. 2011 Feb;141(2):249-58. doi: 10.1530/REP-10-0362
16. Moretti E, Cosci I, Spreafico A, Serchi T, Cuppone AM, Collodel G. Semen characteristics and inflammatory mediators in infertile men with different clinical diagnoses. *Int J Androl*. 2009 Dec;32(6):637-46. doi: 10.1111/j.1365-2605.2008.00911.x

## REFERENCES

**Адрес для корреспонденции**

79010, Украина,  
г. Львов, ул. Пекарская, д. 69,  
Львовский национальный  
медицинский университет  
имени Данила Галицкого,  
кафедра урологии ФПДО,  
тел. моб.: +38 097 633-57-27,  
e-mail: nyosyf@ukr.net,  
Наконечный Иосиф Андреевич

**Address for correspondence**

79010, Ukraine,  
Lviv, Pekarskaya Str., 69,  
Danylo Halytsky Lviv National  
Medical University,  
Department of Urology  
Of the Post-Graduate Education Faculty.  
Tel. mobile +38 097 633-57-27,  
e-mail: nyosyf@ukr.net,  
Yosyf A. Nakonechnyi

**Сведения об авторах**

Наконечный Иосиф Андреевич, аспирант кафедры урологии ФПДО, Львовский национальный медицинский университет имени Данила Галицкого, г. Львов, Украина.

<https://orcid.org/0000-0002-6872-1889>

Гаврилюк Анна Мирославовна, д.б.н., доцент кафедры клинической иммунологии и аллергологии, Львовский национальный медицинский университет имени Данила Галицкого, г. Львов, Украина.

<http://orcid.org/0000-0001-9808-8896>

Наконечный Андрей Иосифович, д.м.н., профессор кафедры детской хирургии, Львовский национальный медицинский университет имени Данила Галицкого, г. Львов, Украина.

<http://orcid.org/0000-0003-1402-6642>

Чопяк Валентина Владимировна, д.м.н., профессор, заведующая кафедрой клинической иммунологии и аллергологии, Львовский национальный медицинский университет имени Данила Галицкого, г. Львов, Украина.

<http://orcid.org/0000-0003-3127-2028>

Курпиш Машей Мечиславович, д.м.н., проф., заведующий отделом иммунобиологии, репродукции и стволовых клеток, Институт генетики человека Польской академии наук, г. Познань, Республика Польша.

<http://orcid.org/0000-0003-3275-3245>

**Information about the authors**

Nakonechnyi Yosyf A., Post-Graduate Student of the Department of Urology of the Post-Graduate Education Faculty, Danylo Halytsky Lviv National Medical University, Lviv, Ukraine.

<https://orcid.org/0000-0002-6872-1889>

Havrylyuk Anna M., MD, Associate Professor of the Department of Clinical Immunology and Allergology, Danylo Halytsky Lviv National Medical University, Lviv, Ukraine.

<http://orcid.org/0000-0001-9808-8896>

Nakonechnyi Andrii I., MD, Professor of the Pediatric Surgery Department, Danylo Halytsky Lviv National Medical University, Lviv, Ukraine.

<http://orcid.org/0000-0003-1402-6642>

Chopyak Valentyna V., MD, Professor, Head of the Department of Clinical Immunology and Allergology, Danylo Halytsky Lviv National Medical University, Lviv, Ukraine.

<http://orcid.org/0000-0003-3127-2028>

Kurpysz Maciej M., MD, Professor, Head of the Department of Immunobiology, Reproduction and Stem Cells, Institute of Human Genetics Polish Academy of Sciences, Poznan, Republic of Poland.

<http://orcid.org/0000-0003-3275-3245>

**Информация о статье**

*Поступила 22 мая 2019 г.*

*Принята в печать 4 ноября 2019 г.*

*Доступна на сайте 31 декабря 2019 г.*

**Article history**

*Arrived: 22 May 2019*

*Accepted for publication: 4 November 2019*

*Available online: 31 December 2019*